910

878

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง ผลของการเสริมกากถั่วเหลืองต่อปริมาณโปรตีนในเทมเป้ซึ่งหมักด้วยเชื้อผสม

(Effect of Hulls Supplementation on Protein Content in Tempeh with Bacterial Co-Fermentation)

โดย

ได้รับพิจารณาเห็นชอบจาก

..... 9/4/34 อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

(ดร.วรวุฒิ ครุสัง)

..... 9/4/34 กรรมการของภาควิชา

( )

..... 25/4/34 กรรมการของภาควิชา

(นส. รัตรา ตาปอม)

23 S.A. 254

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

.....

(ผศ.ชูชาติ ภาโสภณ)

หัวหน้าภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

วันที่ 9 เดือน 4 พ.ศ. 34

ปพ.
ธ 261 พ
2533

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

14078

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ (45499)

เรื่อง

ผลของเปลือกถั่วเหลืองต่อปริมาณโปรตีนในเทมเป้ซึ่งหมักด้วยเชื้อผสม

(Effect of Hulls Supplementation on Protein Content in Tempeh with Bacterial Co-Fermentation)

T096513

โดย

นางสาวชนิยา สินธุวงษ์ภูษา

เสนอ

ปพ.
ส264ผ
2533

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....96513
วัน,เดือน,ปี.....

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (อุตสาหกรรมเกษตร)

พ.ศ. 2533

ACC. NO.....
Date Received 16 ส.ค. 2534
Call No.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หอสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

บทคัดย่อ

เทมเป้เป็นอาหารหมักเชื้อรา Rhizopus oligosporus ที่ทำจากถั่วเหลือง นิยมรับประทานเป็นอาหารหลักในประเทศอินโดนีเซีย,นิวกีนีและซูรินาม ในการทดลองนี้ได้ทดลองหมักถั่วเหลืองเติมเปลือกลงไปในปริมาณต่าง ๆ ด้วยเชื้อรา R. oligosporus พบว่าการเติมเปลือกในปริมาณ 5% ของน้ำหนักถั่วเหลืองทั้งหมด เชื้อนี้สามารถเจริญได้ดีใกล้เคียงกับถั่วเหลืองที่ไม่เติมเปลือกหมักและเมื่อเติมเปลือกในปริมาณที่มากกว่า 10% ของน้ำหนักถั่วเหลืองทั้งหมดเชื้อนี้จะสามารถเจริญได้น้อยมาก จากนั้นนำถั่วเหลืองผสมเปลือกปริมาณที่เหมาะสมไปหมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii 1250, เชื้อรา R. oligosporus และเชื้อผสมของ P. shermanii 1250, กับเชื้อรา R. oligosporus พบว่าเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 สามารถเจริญได้ดีพอ ๆ กันทั้งในถั่วเหลืองและถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% ส่วนเชื้อรา R. oligosporus และเชื้อผสมของ P. shermanii 1250 กับ R. oligosporus ก็สามารถเจริญได้ทั้งในถั่วเหลืองและถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% เช่นเดียวกัน เชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 มีผลต่อการเจริญของเชื้อรา R. oligosporus เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียP. shermanii 1250 สามารถสร้างกรดโปรพิโอนิคออกมาในระหว่างการหมักซึ่งมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา R. oligosporus (Fungistatic).

การหมักถั่วเหลืองผสมเปลือก 5%ด้วยเชื้อรา R. oligosporus, เชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 และเชื้อผสมของ P. shermanii 1250 กับ R. oligosporus ที่เวลาการหมักต่าง ๆ พบว่าเชื้อรา R. oligosporus สามารถเจริญได้เต็มที่ภายใน 24 ชั่วโมง หลังจากช่วงนี้แล้วการเจริญจะลดน้อยลง จนเมื่อถึงช่วงสุดท้ายของการหมักพบว่า ถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% หมักมีลักษณะแห้ง แข็ง มีสีคล้ำ มีกลิ่นแอมโมเนียและเส้นใยสีขาวลดลง, เชื้อแบคทีเรียP. shermanii 1250 ทำให้ถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% เกิดการเปลี่ยนแปลงมากขึ้นเมื่อเวลาการหมักเพิ่มขึ้น ซึ่งลักษณะที่เกิดขึ้นเป็นลักษณะที่ไม่ค่อยดีนัก และเชื้อผสมของ P. shermanii 1250 กับ R. oligosporus ทำให้ถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% เกิดการเปลี่ยน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้.

แปลงให้ลักษณะผสมระหว่างเชื้อทั้งสอง ส่วนพีเอชและ total acidity ในระหว่างการหมักถั่วเหลืองและถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% ด้วยเชื้อทั้ง 3 ชนิดเพิ่มขึ้น

เมื่อนำทั้งถั่วเหลืองและถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% หมักด้วยเชื้อทั้ง 3 ชนิด ไปวิเคราะห์ crude protein เพื่อศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณโปรตีนที่เวลาการหมักต่าง ๆ พบว่า ถั่วเหลืองและถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% ที่หมักด้วยเชื้อทั้ง 3 ชนิดที่เวลาการหมักต่าง ๆ มีปริมาณโปรตีนไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

การจัดทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษาการทำปัญหาพิเศษ อาจารย์วราวุฒิ ครูส่ง และอาจารย์เหมือนเดือน พิศาลพงศ์ ที่ให้ความช่วยเหลือในด้านต่าง ๆ ตลอดจนให้คำแนะนำในการแก้ไขปัญหาให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ท้ายที่สุดขอขอบคุณอาจารย์ทุกท่าน,พี่วิไล สนธิเพิ่มพูน ที่ให้ความสะดวกในเรื่องของอุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ ขอขอบคุณ คุณพ่อ คุณแม่ เพื่อนและน้อง ๆ ที่ คอยช่วยเหลือและให้กำลังใจเป็นอย่างดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
จุดประสงค์ของการทดลอง	16
อุปกรณ์และวิธีการ	17
ขั้นตอนของการทดลอง	20
ผลการทดลอง	22
สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	32
เอกสารอ้างอิง	35
ภาคผนวก ก.	36
ภาคผนวก ข.	39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. ส่วนประกอบโดยประมาณของถั่วเหลืองและส่วนของถั่วเหลืองโดยน้ำหนักแห้ง	8
2. ชนิดจุลินทรีย์ที่ผลิตวิตามินบี 12	13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ

ภาพที่	หน้า
1. ขั้นตอนการเตรียมเทมเป้	2
2. ภาพหน้าตัดของเปลือกถั่วเหลืองและเนื้อถั่วเหลือง	7
3. ลักษณะของเชื้อรา Rhizopus oligosporus	10
4. การหมักถั่วเหลืองผสมเปลือกปริมาณ 0%, 2.5%, 5.0%, 7.5%, และ 10.0% ของน้ำหนักถั่วเหลืองทั้งหมดด้วยเชื้อรา Rhizopus oligosporus เป็นเวลา 24 ชั่วโมง	22
5. การหมักถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% ด้วยเชื้อรา Rhizopus oligosporus (R), เชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii 1250 (P) และเชื้อผสมของ R. oligosporus กับ P. shermanii 1250 (R+P) ที่เวลาต่างๆโดยเปรียบเทียบกับถั่วเหลืองปราศจากเปลือกผสมหมักด้วยเชื้อรา R. oligosporus (C)	24
6. ปริมาณโปรตีนในถั่วเหลืองและถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% หมักด้วย (1) เชื้อรา Rhizopus oligosporus (2) เชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii 1250 (3) เชื้อผสมของ R. oligosporus กับ P. shermanii 1250 ที่เวลาต่างๆ	29
7. พีเอช (pH)ของถั่วเหลืองและถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% หมักด้วย (1) เชื้อรา Rhizopus oligosporus (2) เชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii 1250 (3) เชื้อผสมของ R. oligosporus กับ P. shermanii 1250 ที่เวลาต่างๆ	30
8. Total Acidity ของถั่วเหลืองและถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% หมักด้วย (1) เชื้อรา Rhizopus oligosporus (2)เชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii 1250	31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(3)เชื้อผสมของ Rhizopus oligosporus กับ Propionibacterium shermanii 1250 ที่เวลาต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

ปัญหาพิเศษเล่มนี้เสนอการทดลองในการทำปัญหาพิเศษเรื่อง ผลของเปลือกถั่วเหลืองต่อปริมาณโปรตีนในเทมเป้ซึ่งหมักด้วยเชื้อผสม (Effect of Hulls Supplementation Protein Content in Tempeh with Bacterial Co-Fermentation)

ผู้จัดทำหวังว่าปัญหาพิเศษเล่มนี้จะเป็นประโยชน์แก่ผู้อ่านและเป็นแนวทางการศึกษาแก่ผู้สนใจต่อไป.

ผู้จัดทำ

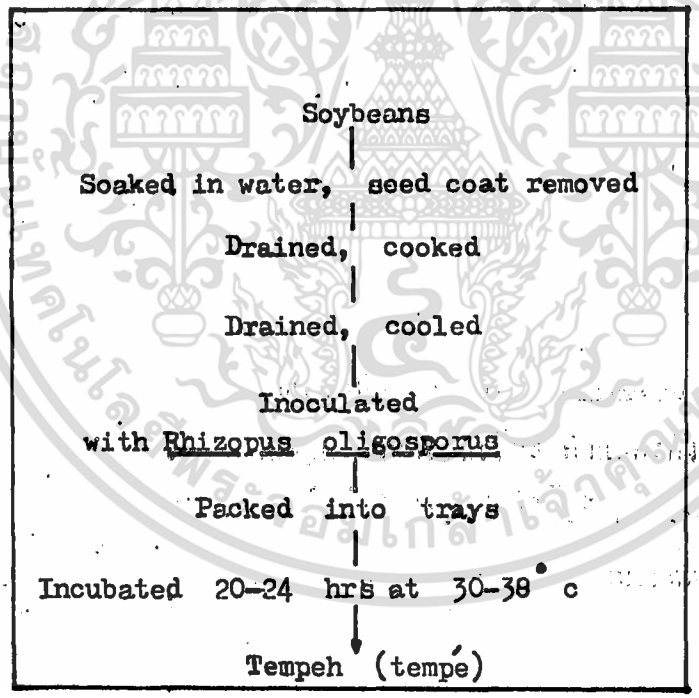
ชนิยา สินธุวงษ์ภูษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

เทมเป้ (Tempeh)

เทมเป้ (Tempeh) เป็นอาหารที่นิยมกันในประเทศอินโดนีเซีย ทำจากถั่วเหลืองที่แช่น้ำไว้เอาเปลือกออกแล้วหมักด้วยเชื้อรา Rhizopus oligosporus เป็นเวลา 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 30-38 องศาเซลเซียส ดังแสดงดังภาพที่ 1 จนเกิดเป็นเส้นใย (Mycelium) สีขาวขึ้นทั่วยึดถั่วเหลืองไว้เป็นแผ่นเดียวกัน จึงนำมาหั่นเป็นชิ้นบาง ๆ และทอดในน้ำมันที่ร้อนจัดนำไปรับประทาน เทมเป้ที่ทำจากถั่วเหลืองนี้มีรสอร่อย กลิ่นดี และมีคุณลักษณะอื่น ๆ ที่ดีซึ่งนอกจากจะมีคุณค่าทางอาหารสูงขึ้นแล้ว ยังทำได้ง่ายในราคาถูกและในระยะเวลาอันสั้น



ภาพที่ 1 ขั้นตอนการเตรียมเทมเป้

ที่มา : Bewchat (1984)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาเกี่ยวกับคุณค่าทางอาหารและการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักถั่วเหลืองโดยเชื้อรา Rhizopus นี้เป็นไปอย่างกว้างขวาง และในการศึกษาอื่น ๆ พบว่าการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อรา Rhizopus จะทำให้เนื้ออาหารที่ละลายได้ (total soluble solids), วิตามิน (vitamins), กรดไขมันอิสระ (free fatty acids), ไนโตรเจนที่ละลายได้ (soluble nitrogen) และกรดอะมิโนอิสระ (free amino acids) มีปริมาณเพิ่มขึ้น ในขณะที่ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (total nitrogen) และองค์ประกอบของกรดอะมิโน (amino acids composition) ค่อนข้างคงที่ (ลาวัณย์,2519)

<u>การเปลี่ยนแปลงส่วนประกอบทางเคมีในเทมเป้</u>

การเปลี่ยนแปลงส่วนประกอบทางเคมีในเทมเป้พอจะกล่าวได้ดังนี้ (สุวิมล,2516)

1. เนื้ออาหารที่ละลายได้ (total soluble solids) เพิ่มจาก 13% ไปจนถึง 28% เนื่องจากถั่วเหลืองถูกย่อยโดยเอนไซม์จากเชื้อรา

2. ไนโตรเจนที่ละลายได้ (Soluble nitrogen) เพิ่มจาก0.5% จนเกือบถึง 2.0% ในขณะที่ไนโตรเจนทั้งหมด (total nitrogen) คงที่ประมาณ 7.5% เนื่องจากอาจได้รับมาจากแอมโมเนียซึ่งเกิดจากการย่อยสลายของกรดอะมิโนซึ่งเป็นโครงสร้างพื้นฐานของโปรตีน

3. pH จะเพิ่มขึ้นอย่างสม่ำเสมอจาก pH 5.0-7.0 สำหรับช่วงที่เหมาะสมคือ 6.3-6.5

4. Reducing substance จะเพิ่มขึ้นในช่วงแรก ๆ เนื่องจากการย่อยโดยเอนไซม์และจะลดลงเรื่อง ๆ เมื่อเชื้อราใช้เป็นอาหารของมัน

5. Crude fibre จะเพิ่มขึ้นจากเดิม 3.7% เป็น 5.8%

6. Ash จะเพิ่มขึ้นเล็กน้อย

7. Protein ส่วนใหญ่ถูกทำให้สลายออกเป็นกรดอะมิโน ส่วนไลซีนและเมไธโอนีนจะลดลงในขณะที่ไนโตรเจนทั้งหมดค่อนข้างคงที่ และปริมาณไนโตรเจนที่ละลายได้จะเพิ่มขึ้นอย่างมากและถ้าหมักนานจะมีแอมโมเนียเกิดขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. ไขมัน (lipid) neutral fat ปริมาณ 1/3 จะถูกย่อยสลายไปเป็น palmitic acid , stearic acid , oleic acid, linoleic acid และ linolenic acid แต่เชื้อรา Rhizopus จะใช้เฉพาะ linolenic acid ดังนั้นปริมาณไขมันจึงค่อนข้างคงที่

9. เอนไซม์ เอนไซม์ไลเปสและโปรติเอสเกิดขึ้นเป็นปริมาณมาก ดังนั้นจึงมีการเปลี่ยนแปลงของไขมันและโปรตีนอย่างมาก ส่วนเอนไซม์อะไมเลสเกิดขึ้นน้อย

การปนเปื้อนของแบคทีเรียในเทมเป้

ในการทำเทมเป้ ถ้าไม่ควบคุมให้ดีก็อาจจะมีเชื้ออื่นหลงเข้าปะปนอยู่บ้าง เช่น แบคทีเรียทั้งที่สร้างและไม่สร้างสปอร์ พวกจุลินทรีย์ที่ปะปนนี้จะก่อให้เกิดกลิ่นเหม็นและมีน้ำเหลว ๆ แยกชั้นออกจากถั่วเหลืองแสดงว่าเทมเป้นั้นเสีย วิธีการป้องกันการปะปนของเชื้ออื่น ๆ ก็โดยการปรับ ให้ได้ประมาณ 5.0 หรือต่ำกว่า 5.0 จะช่วยป้องกันแบคทีเรียได้ ในทางอุตสาหกรรมใช้ 0.85% ของ lactic acid ผสมลงในน้ำแช่ถั่ว ซึ่งจะทำให้ pH อยู่ในช่วง 4.1-5.0 pHในช่วงนี้จะยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ แต่อย่างไรก็ดีได้มีการทดลองแล้วพบว่าวิธีการนี้อาจไม่ต้องใช้ก็ได้ทั้งนี้เพราะเชื้อรา R. oligosporus สามารถสร้าง antibacterial agent ซึ่งสามารถยับยั้งแบคทีเรียและเนื่องจากเชื้อราชนิดนี้เจริญได้รวดเร็วมาก ดังนั้นการเจริญของแบคทีเรียจึงเป็นไปได้น้อย แต่อย่างไรก็ตามถ้าควบคุมไม่ดีพอ มีแบคทีเรียมาก แบคทีเรียก็สามารถเจริญได้เช่นกันเพราะฉะนั้นการทำเทมเป้ควรทำแบบสภาวะปลอดเชื้อเชื้อจึงจะได้ผลดี (อนุชิต,2519; อรพิน,2523)

คุณค่าทางโภชนาการของเทมเป้ (Nutritive value of Tempeh)

คุณค่าทางโภชนาการของเทมเป้ พอจะกล่าวถึงได้ดังนี้ (วราวุฒิและรุ่งนภา ,2532)

1. เทมเป้มีโปรตีนซึ่งมีคุณภาพสูง (rich in high - quality protein) พบว่าเทมเป้มีโปรตีนสูงและสูงกว่าเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์นมอีกด้วย ส่วนในแง่ของคุณภาพของโปรตีนขึ้นกับความสามารถในการถูกย่อยของโปรตีนนั้น (Protein

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

digestibility) และปริมาณของกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย (essential amino acid) 8 หรือ 10 ชนิดที่ร่างกายต้องการ

2. เทมเป้เป็นแหล่งของวิตามินบีสิบสอง (source of essential vitamin B12) ในปี 1977 Liem, steinkraus และ Cronk แห่ง Cornell University's New York State Agricultural Experiment Station ได้ประกาศว่าเทมเป้เป็นอาหารที่เหมาะสมสำหรับพวกที่รับประทานอาหารแบบมังสวิรัติ เพราะมีคุณค่าทางโภชนาการรวมทั้งวิตามินบี12 สูง

3. เทมเป้มีปริมาณไขมันอิ่มตัวต่ำ (low in saturated fats) ในขณะเดียวกันก็มี lecithin รวมกับ essential polyunsaturated fatty acid ซึ่งทำหน้าที่เป็นอีมัลซิฟายเออร์และกำจัดการสะสม cholesterol และกรดไขมันชนิดอื่น ๆ ตามอวัยวะและกระแสโลหิต

4. เทมเป้เป็นตัวลด cholesterol ในอาหารพวกเทมเป้และอาหารที่ทำมาจากถั่วเหลืองชนิดอื่น ๆ เป็นอาหารที่ไม่มี cholesterol

5. เทมเป้ถูกย่อยได้สูง (Highly digestible) เทมเป้มี digesibility coefficiency เท่ากับ 86.1% ทั้งนี้เนื่องจากการทำงานเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ในระหว่างช่วงของการหมัก รวมทั้งการใช้ความร้อนในช่วงการเตรียมวัตถุดิบ

6. เทมเป้เป็นแหล่งของวิตามินและเกลือแร่ (a good source of vitamins and minerals) นอกจากวิตามินบี 2 แล้ว ในเทมเป้ยังพบวิตามินเอ (42 IU) บี 1 (0.28 mg) บี 6 ไนอะซินและไบโอติน เป็นต้น ส่วนเกลือแร่ในเทมเป้มี Ca, P, Fe และแมงกานีส เป็นต้น นอกจากนี้แล้วเชื้อรา Rhizopus ยังผลิตเอนไซม์ phytase ออกมาย่อย phatase ซึ่งเป็น chelating agent ในถั่วเหลืองทำให้เกลือต่าง ๆ สามารถนำออกมาใช้ประโยชน์ได้

7. สารปฏิชีวนะในเทมเป้ (medicinal antibiotic) พบว่าเชื้อราที่ใช้ทำเทมเป้สามารถผลิต heat - stable antibacterial agents ซึ่งทำหน้าที่คล้ายสารปฏิชีวนะ มีผลทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค

8. เทมเป้ปราศจากสารพิษ (free of chemical toxins) เมื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปรียบเทียบ เนื้อ ปลา และสัตว์ปีก พบว่ามียาฆ่าแมลงติดอยู่กับเนื้อเยื่อสูงกว่าในเมล็ดพืชถึง 20 เท่า ส่วนในอาหารนมพบมากกว่า 4.5 เท่า สารพิษที่ติดอยู่ในเนื้อเยื่อสัตว์นอกจากยาฆ่าแมลงแล้วยังอาจมียาฆ่าวัชพืช และโลหะหนักอีกด้วย แต่ในเทมเป้ที่บริโภคพบว่าปราศจากสารพิษที่จะเป็นอันตราย

จากที่กล่าวมาทั้งหมดจะเห็นได้ว่าเทมเป้เป็นอาหารหมักพื้นบ้านชนิดหนึ่งที่มีคุณค่า ซึ่งสมควรที่จะบริโภคหรือใช้เป็นอาหารเสริม ดังนั้นจึงน่าที่จะทำการผลิตอาหารหมักชนิดนี้ให้แพร่หลายมากขึ้น

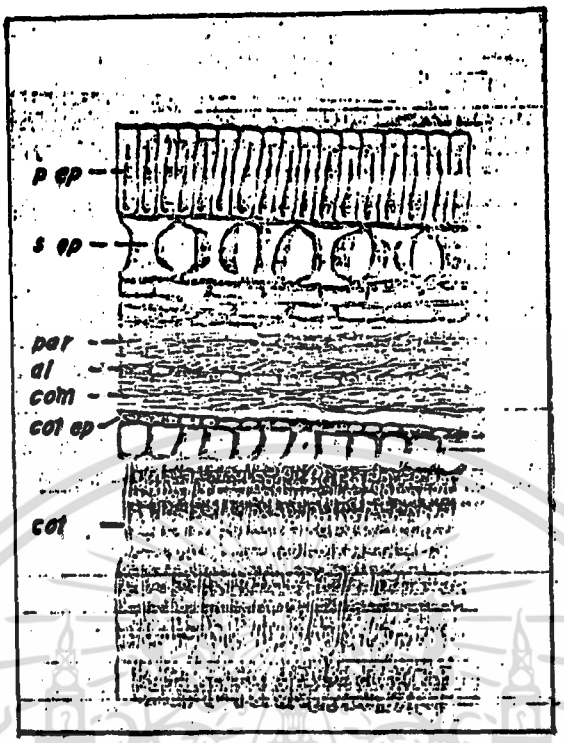
วัตถุดิบที่ใช้ในการหมักเทมเป้

ถั่วเหลืองมีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ Glycine Max(L) Merrill ซึ่งเป็นพืชที่อยู่ในตระกูลของ Leguminosate , Subfamily Papilionoideae ได้มีการปลูกและนำมาใช้บริโภคเป็นอาหารพื้นเมืองนานาชนิด ถั่วเหลืองของไทยที่นิยมปลูกกันนั้นจะปลูกบริเวณภาคเหนือและภาคกลางตอนบน มักเป็นพันธุ์ที่ได้รับการส่งเสริมจากหน่วยงานทดลองของทางราชการแล้วเป็นส่วนใหญ่กล่าวคือ พันธุ์ ส.จ.1 , ส.จ.2 , ส.จ.4 และ ส.จ. 5 เป็นต้น (ส.จ. ย่อมาจากสถานีกสิกรรมแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่)

ถั่วเหลืองโดยทั่วไปแล้วจะเป็นรูปเมล็ดกลมรี มีขนาดน้ำหนักเมล็ดในราว 0.10-0.20 กรัม ขึ้นอยู่กับชนิดของพันธุ์ เส้นผ่านศูนย์กลางของเมล็ดด้านยาวอยู่ในช่วง 0.6-0.9 เซนติเมตร และเส้นผ่านศูนย์กลางด้านสั้นอยู่ในช่วง 0.5-0.7 เซนติเมตร มีส่วนประกอบแยกเป็น 3 ส่วน คือ

1. ส่วนเปลือก (hull) มีปริมาณ 7 % โดยน้ำหนัก สีของเปลือกมีอยู่ด้วยกันหลายสี เช่น สีเหลืองใช้ในอุตสาหกรรมทำอาหารคนโดยทั่วไป : สีดำใช้ในอุตสาหกรรมโรงงานสกัดน้ำมันพืช สีเขียวและสีน้ำตาลไม่นิยมนำมาใช้กันมากนัก ส่วนของเปลือกประกอบด้วย palisade cells , parenchyma , aleurone cells และ compressed cells of the endosperm ดังแสดงในภาพที่ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2 ภาพหน้าตัดของเปลือกถั่วเหลืองและเนื้อถั่วเหลือง

ส่วนของเปลือก : pep = palisade cells, sep = bourglass cells; par = parenchyma, al = aleurone cells, and com = compressed cells of the endosperm

ส่วนของเนื้อถั่ว : cot ep = the epidermis and cot = the aleurone cells

ที่มา : สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร (2527)

2. ส่วนของใบเลี้ยง (cotyledons) มีปริมาณ 10 % โดยน้ำหนัก เป็นส่วนของเนื้อถั่วประกอบด้วย epidermis และ elongated palisade like cells ซึ่งเต็มไปด้วยโปรตีนและไขมัน

3. ส่วนของยอดอ่อน มีปริมาณ 3 % โดยน้ำหนัก

ทั้งนี้องค์ประกอบทางเคมีของถั่วเหลืองและส่วนของถั่วเหลืองแสดงอยู่ในตารางที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบโดยประมาณของถั่วเหลืองและส่วนของถั่วเหลือง (โดยน้ำหนักแห้ง)

ถั่วเหลืองและส่วนของถั่วเหลือง	โปรตีน	ไขมัน	คาร์โบไฮเดรต	เถ้า
ถั่วเหลืองทั้งเมล็ด	40	21	34	4.9
ใบเลี้ยง	43	23	29	5.0
เปลือกถั่วเหลือง	8.8	1	86	4.3
ยอดอ่อน	41	11	43	4.4

ที่มา : สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร (2527)

เชื้อราที่ใช้ทำเทมเป้

เชื้อราที่ใช้ทำเทมเป้ คือเชื้อรา Rhizopus ซึ่งพบว่ามีประมาณ 40 พันธุ์ (Strains) ที่ใช้ทำเทมเป้แล้วมีกลิ่นรสดีพันธุ์เหล่านี้ได้แก่ (อนุชิต ,2519)

Name	NO. of cultures
Rhizopus oligosporus Saito	25
Rhizopus stolonifer (Ehren) Vuill	4
Rhizopus arrhizus Fischer	3
Rhizopus oryzae Went & Geerligs	3
Rhizopus formosaensis Nakazawa	3
Rhizopus achlamydosporous Takeda	2
total	40

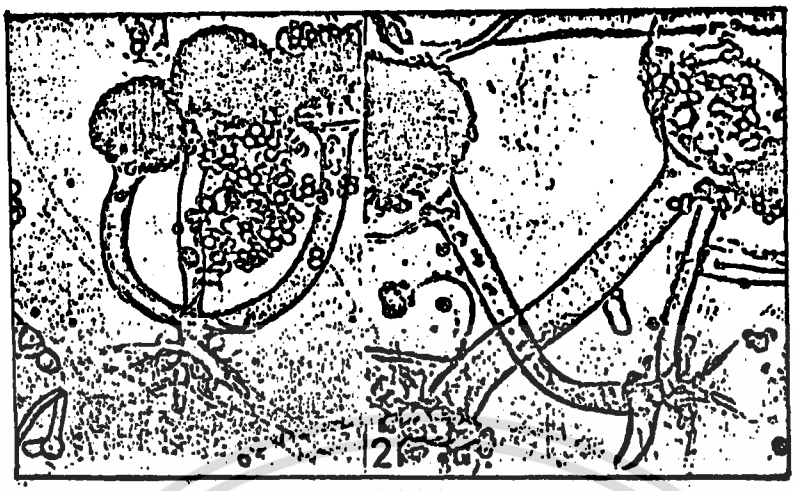
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แต่สำหรับตัวหลักที่ใช้ในการทำเทมเป้คือเชื้อรา R. oligosporus ลักษณะประจำพันธุ์ของเชื้อรา Rhizopus คือ เส้นใยไม่มีผนังกั้น (non - septate mycelia) อับสปอร์ (sporangium) เป็นโครงสร้างพิเศษพองขึ้นมาตรงปลายเส้นใย เมื่อปลายเส้นใยขยายพองออกแล้วต่อมาจะมีผนังกั้นเกิดขึ้นกั้นส่วนปลายออกจากเส้นใย ภายในส่วนปลายนี้จะมีการแบ่งของนิวเคลียสซ้ำแล้วซ้ำเล่าจนได้จำนวนมาก โปรโตพลาสซึม (protoplasm) ก็จะแบ่งกันไปหุ้มนิวเคลียสเหล่านั้น และพออายุมากขึ้นก็สร้างผนังขึ้นหุ้มโดยรอบกลายเป็นสปอร์จำนวนมากบรรจุอยู่ในอับสปอร์ ดังแสดงในภาพที่ 3 ตรงส่วนก้านของอับสปอร์เรียก sporangiophore ซึ่งตรงปลายของมันเป็นที่ตั้งของอับสปอร์ที่เรียกว่า columella ปกติจะมีรูปร่างคล้ายกระบองคือ ส่วนปลายโตกว่าส่วนโคน อับสปอร์ที่แก่จัดอาจระเบิดออกหรือแตกออก เนื่องจากแรงภายนอกมากระทำสปอร์ภายในก็จะกระจายออกไปทั่ว สปอร์เหล่านี้มีความทนทานต่อความแห้งแล้งและสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมมากกว่าเซลปกติ (vegetative cell) เมื่อสปอร์ตกไปในที่มีความชื้น อาหารและสภาวะที่เหมาะสมก็จะงอกออกมาเป็นเส้นใยเจริญเติบโตจนกระทั่งสร้างสปอร์ต่อไป อย่างไรก็ตามลักษณะที่สำคัญของเชื้อรา Rhizopus จึงใช้ในการจำแนกออกจากเชื้อราในกลุ่ม Phycomycetes เดียวกัน คือ Rhizoid ซึ่งมีตำแหน่งอยู่ในบริเวณฐานของ sporangiophore

แหล่งพลังงานของเชื้อรานี้ แหล่งแรกคือพวกไขมัน (lipid materials) แหล่งไนโตรเจนคือเกลือแอมโมเนียม (amonium Salts) และกรดอะมิโนบางตัว เช่น proline, glycine , aspartic acid , leucine ส่วนพวกน้ำตาลคือ glucose , fructose และ galactose (อนุชิต ,2519)

เชื้อรา R. oligosporus มีเอนไซม์ที่สำคัญคือเอนไซม์โปรติเอส (protease) และเอนไซม์ไลเปส (lipase) ซึ่งมีประสิทธิภาพในการทำงานสูง ส่วนเอนไซม์อะไมเลส (amylase) จะมีประสิทธิภาพในการทำงานต่ำกว่า พันธุ์ที่ได้รับการยอมรับและนิยมใช้กันมากคือ NRRL 2710 (Shurtleff and Aoyagi, 1985)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3 ลักษณะของเชื้อรา Rhizopus oligosporus
ที่มา : อนุชิต (2519)

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา Rhizopus oligosporus

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา R. oligosporus พอจะแบ่งออกได้ดังนี้ (อนุชิต ,2519)

1. การปะปนของเชื้อจุลินทรีย์อื่น ๆ เพราะว่าจุลินทรีย์อื่นใช้อาหารของเชื้อราหมดไปและนอกจากนั้นยังอาจปลดปล่อยกรดต่าง ๆ ทำให้เชื้อราไม่สามารถเจริญได้เนื่องจากสภาวะไม่เหมาะสม

2. ความเข้มข้นของกรดไฮโดรเจนอิออน (pH) โดยเอนไซม์โปรติเอสที่เชื้อราสร้างขึ้นนี้จะมีกิจกรรมสูงและเสถียรในช่วง pH ประมาณ 3.5 และช่วง pH ประมาณ 5.0-5.5

3. ออกซิเจน เนื่องจากเชื้อรา Rhizopus เป็นจุลินทรีย์พวก aerobesดังนั้นในการทำเทมเป้ การบรรจุถั่วลงในภาชนะและลักษณะของภาชนะมีความสำคัญมาก ควรบรรจุไม่ให้หนาเกินไปเพราะว่าออกซิเจนจะเข้าไปไม่ถึงตรงกลาง ดังนั้นการบรรจุควรบรรจุให้แน่นพอควรเพื่อให้ออกซิเจนแทรกอยู่ตามช่องว่างได้ เชื้อราจึงจะเจริญได้ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ความชื้น เชื้อราต้องการความชื้นพอประมาณไม่มากและน้อยเกินไป ถ้าความชื้นมากเกินไปจุลินทรีย์อื่น ๆ จะขึ้นได้ดีทำให้ผลิตภัณฑ์เสีย ตามปกติความชื้นที่เหมาะสมประมาณ 50 %

5. อุณหภูมิ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตคือ 30-40 องศาเซลเซียส โดยเฉลี่ยจะเจริญได้ดีที่สุดที่ 37 องศาเซลเซียส แต่ถ้าอุณหภูมิสูงถึง 45 องศาเซลเซียส การเจริญของเชื้อราจะหยุดชงัก

6. การแยกเปลือกถั่วเหลืองออก ถั่วเหลืองถ้าไม่แกะเปลือกออก เชื้อราจะขึ้นได้ไม่ดี

จุลินทรีย์ที่ใช้ผลิตวิตามินบี 12

จุลินทรีย์หลายชนิดสามารถผลิตวิตามินบี 12 ได้ เพราะมีการเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วพร้อมกับผลิตวิตามินมาก สายพันธุ์ที่น่าสนใจในอุตสาหกรรม ดังแสดงในตารางที่ 2 ในจำนวนจุลินทรีย์เหล่านี้ Propionibacteria สองสายพันธุ์ และ Pseudomonas หนึ่งสายพันธุ์ พันธุ์ที่เจริญในอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรตได้รับเลือกมากกว่า Streptomyces สำหรับสายพันธุ์อื่น ๆ ได้นำมาศึกษาเพื่อหวังจะให้สามารถใช้แหล่งอาหารที่มีราคาถูกกว่าคาร์โบไฮเดรต สายพันธุ์ที่ดีที่สุดคือสายพันธุ์ผ่าเหล่าต่าง ๆ ที่มีความทนทานต่อสารเคมีชนิดต่าง ๆ แต่ไม่ว่าจะเป็นสายพันธุ์ใดจำเป็นต้องมีการเติม Co^{++} ทุกครั้งไป นอกจากนี้ยังต้องเติม precursor ลงไปเพื่อช่วยให้การสังเคราะห์ดีขึ้น

การสังเคราะห์วิตามินบี 12 โดย Propionibacteria จุลินทรีย์ชนิดนี้ต้องการอากาศเพียงเล็กน้อย สามารถที่จะผลิต Cobaltocorrinoids จากการใช้คาร์โบไฮเดรตโดยการเติมโคบอลท์ลงไปด้วยและอยู่ในสภาพที่ไม่มีการหมุนเวียนของอากาศ อย่างไรก็ตามการผลิต Cobalamins โดยเฉพาะ adenosyl cobalamin ขึ้นอยู่กับการเติม 5,6 – dimethylbenzlmidazole (DBI) ในขบวนการนี้ Propionibacterium freudenrechii AACC 6207 , P. shermanii และจุลินทรีย์ผ่าเหล่าของจุลินทรีย์เหล่านี้ สามารถที่จะสังเคราะห์ DBI โดยตัวของมันเองและการหมุนเวียนของอากาศเหมาะแก่การสังเคราะห์ DBI ด้วย ดังนั้นเมื่อต้องการผลิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิตามินบี 12 จำนวนมาก ควรจะใช้ขบวนการผลิตสองขั้นตอน อาหารที่ใช้ในการเลี้ยงจุลินทรีย์ที่ผลิตวิตามินบี 12 นี้ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสเป็นหลัก หรือกากน้ำตาล (10-100 g/l) เฟอร์รัส มังกานีส และเกลือแมกนีเซียมในปริมาณเล็กน้อยพร้อมกับเติมโคบอลท์ (10-100 mg/l) สารเคมีพวกบัฟเฟอร์ สารประกอบไนโตรเจนที่เตรียมจากยีสต์ ไฮโดรไลเซทของเคซีนหรือน้ำแช่ข้าวโพดมักนิยมใช้กันเพราะมีกรดแลคติค และแพนโทเคอะนิคปนมาด้วยช่วยทำให้แบคทีเรียเจริญได้ดี นอกจากนี้กรดแพนโทเคอะนิคยังกระตุ้นการสังเคราะห์ Corrinoids ซึ่งทำให้แบคทีเรียเจริญได้ดี บางครั้งจึงจำเป็นต้องเติมกรดชนิดนี้ลงไปด้วยที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พีเอชอยู่ระหว่าง 6.5-7.0

Cobalamine ปกติจะอยู่ภายในเซลและจะถูกขับออกนอกเซลได้ต้องทำให้สารละลายเป็นกรด มีพีเอช 2-3 หรือต้มจึงจะได้ Cobalamine ออกมาและแปรเปลี่ยนเป็น cyanocobalamine (True B12) โดยเติมโปแตสเซียมไซยาไนด์ระหว่างที่มีการสกัด

เชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii (ปรียา,2524) อยู่ใน

Class: Schizomycetes เป็นแบคทีเรียแกรมบวก
Order: Eubacteriales
Family: Propionibacteriaceae
Genus: Propionibacterium
Specy: Shermanii

เชื้อแบคทีเรีย P. shermanii มีหลายรูปร่าง ไม่เคลื่อนไหว และมักจะต่อกันเป็นเส้นสายหรืออยู่รวมกันเป็นกลุ่ม ไม่สร้างสปอร์ มีเอนไซม์คาทาเลส เป็นพวก Anaerobe หรือ Aerotolerant สามารถหมักกรดแลคติคหรือการ์โบไฮเดรตให้กรดโพรพิโอนิค,อะซิติก และการ์บอนไดออกไซด์ ดังนั้นในขบวนการทำเนยแข็งเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii จะหมักแลคเตทให้กาซ ทำให้เนยแข็งมีรูพรุนและกลิ่นรสที่ต้องการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 ชนิดจุลินทรีย์ที่ผลิตวิตามินบี 12

Straim	Carbon source	Yield (mg/liter)
Nicromonospora sp.	Glucose	11.5
Nocardia rugosa	Glucose-cane molasses	14
Propionibacterium freudenreichii	Glucose	25
Propionibacterium shermanii	Glucose	23
Propionibacterium shermanii	Glucose	28
Propionibacterium shermanii	Glucose	39
Propionibacterium shermanii	Glucose	25
Pseudomonas denitrificans	Beet molasses	59
Streptomyces olivaceus	Glucose-lactose	8.5
Mixed methanogenic bacteria	Methanol	35
Bacterium FM-02T	Methanol	2.6
Methanobacillus omelianskii	Methanol	8.8
Protoaminobacter ruber	Methanol	2.5
Corynebacterium and Rhodopseudomonas	n-Paraffins	2.3
Nocardia gardneri	Hexadecane	4.5

ที่มา : อรพิน (2526)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิตามินบี 12

(Cobalamin , Animal Protein Factors)

วิตามินบี 12 มีสูตรทั่วไป $C_{63}H_{84}O_{14}N_{14}PCo$ มีลักษณะเป็นผลึกสีแดง ละลายน้ำได้ง่าย ประกอบด้วยเกลือแร่ที่สำคัญ 2 ตัว คือ โคบอลท์ และฟอสเฟอรัส วิตามินบี 12 ในธรรมชาติมีหลายรูป มีชื่อรวมว่า Cobalamin ที่สำคัญมี 2 รูป คือ Cyanocobalamin และ Hydroxocobalamin วิตามินบี 12 สลายตัวได้ง่ายเมื่อถูกกรด ด่าง หรือแสงสว่าง (เสาวนีย์,2532)

หน้าที่ของวิตามินบี 12

1. จำเป็นสำหรับการทำงานของเซลในไขกระดูก ระบบประสาทและระบบทางเดินอาหาร ทำให้เม็ดเลือดแดงแก่ตัวตามปกติ ใช้ได้ดีในการรักษาระบบเลือดที่ผิดปกติ และอาการทางระบบประสาทของคนไข้ที่เป็นโรคโลหิตจางที่มีเม็ดเลือดแดงโตกว่าปกติ

2. ช่วยกระตุ้นความเจริญเติบโตในสัตว์ เช่น สัตว์ปีก หมู วัว ควาย สำหรับคนมีรายงานว่าวิตามินบี 12 ช่วยกระตุ้นความเจริญเติบโตของเด็กที่มีน้ำหนักต่ำกว่าเด็กรุ่นราวคราวเดียวกัน สำหรับในเด็กปกตินั้นยังต้องมีการศึกษาวิจัยกันต่อไป

3. เกี่ยวข้องกับการใช้สารพวกพิวรีน (purines) ในร่างกาย และการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก และนิวคลีโอโปรตีน

ความต้องการวิตามินบี 12 ของร่างกาย

จากการศึกษาของกรมอนามัย (2532) พบว่าคนปกติต้องการวิตามินบี 12 วันละ 1 ไมโครกรัม แต่ได้มีการเสนอแนะให้ผู้ใหญ่ควรได้รับวิตามินบี 12 วันละ 2 ไมโครกรัม เพื่อให้ร่างกายมีการสะสมวิตามินบี 12 อย่างเพียงพอ ส่วนหญิงตั้งครรภ์และหญิงให้นมลูกควรได้รับเพิ่มขึ้นอีกวันละ 0.5 ไมโครกรัม สำหรับเด็กควรได้รับวันละ 0.06 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักหนึ่งกิโลกรัม ถ้าร่างกายได้รับวิตามินบี 12 โดยการกินน้อยเกินไป จะทำให้เป็นโรคโลหิตจางชนิดหนึ่งที่เรียกว่า Pernicious anemia คือเม็ดเลือดแดงโตผิดปกติ ลิ้นอักเสบ และระบบประสาทผิดปกติ คนที่เป็นโรคนี้มักเกิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากความบกพร่องทางพันธุกรรม คือขาดสารที่เรียกว่า Intrinsic Factor (IF) ในน้ำย่อยจากกระเพาะอาหาร IF เป็นสารพวกโปรตีน ช่วยทำให้วิตามินบี 12 ที่อยู่รวมกับสารอื่นในอาหารแยกตัวเป็นอิสระและดูดซึมได้มากขึ้นและง่ายขึ้น อาหารที่มีวิตามินบี 12 มาก คือ อาหารพวกเนื้อสัตว์หรือผลิตผลของสัตว์ เช่น ตับ ไต และหอย (มีประมาณ 40-50 ไมโครกรัมในอาหาร 100 กรัม) เนื้อวัวไม่ติดมัน นม เนยแข็ง ไข่แดง เนื้อแกะ เป็ด ไก่ (มีประมาณ 1-5 ไมโครกรัมในอาหาร 100 กรัม) ส่วนอาหารพวกพืชพบวิตามินบี 12 น้อยมาก แต่อาหารที่ได้จากการหมัก เช่น ปลาหมัก ถั่วหมัก จะมีวิตามินบี 12 มากขึ้น ดังนั้นพวกมังสวิรัติ หรือผู้ที่ไม่รับประทานเนื้อสัตว์แต่รับประทานน้ำปลา ซีอิ๊ว เต้าเจี้ยว ฯลฯ จึงมักไม่เป็นโรคโลหิตจางดังกล่าว เพราะว่าได้รับวิตามินบี 12 เพียงพอจากอาหารเหล่านี้ นอกจากนี้แบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ก็สามารถสังเคราะห์วิตามินบี 12 ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จุดประสงค์ของการทดลอง

1. เพื่อศึกษาถึงปริมาณเปลือกถั่วเหลืองที่เหมาะสมสำหรับเติมลงในถั่วเหลืองเพื่อหมักด้วยเชื้อรา Rhizopus oligosporus

2. เพื่อศึกษาถึงการหมักถั่วเหลืองผสมเปลือกในปริมาณที่เหมาะสมด้วยเชื้อรา R. oligosporus, เชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii 1250 และเชื้อผสมของ P. shermanii 1250 กับ R. oligosporus ที่เวลาการหมักต่าง ๆ

3. เพื่อศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนในถั่วเหลืองผสมเปลือกในปริมาณที่เหมาะสมที่หมักด้วยเชื้อรา R. oligosporus เชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 และเชื้อผสมของ R. oligosporus กับ P. shermanii 1250 ที่เวลาการหมักต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

(Materials and Methods)

1. การเตรียมวัตถุดิบ

1.1 ถั่วเหลือง นำถั่วเหลืองมาแช่ในสารละลาย 1 % ของกรดแลคติค 80 % แล้วเอาเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาจึงนำออกมาแกะเปลือกและแยกเมล็ดถั่วออกเป็น 2 ซีก หลังจากนั้นก็นำมาสะเด็ดน้ำก่อนที่จะนำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส อบถั่วเหลืองจนกระทั่งผิวหน้าของถั่วเหลืองแห้ง โดยขณะอบมีการพลิกกลับถั่วเหลืองอย่างสม่ำเสมอ เมื่ออบถั่วเหลืองเสร็จแล้วจึงนำมาบรรจุลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อให้เต็มนำไปฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ในหม้อนึ่งความดัน เสร็จแล้วนำมาทิ้งให้เย็น

1.2 เปลือกถั่วเหลือง เปลือกถั่วเหลืองที่ใช้ในการทดลองได้จากการแยกออกจากถั่วเหลืองหลังจากผ่านเครื่องแยกเปลือก นำเปลือกมาบดแล้วเก็บในถุงพลาสติก

2. การเตรียมสารละลายโคบอลท์ซัลเฟต เข้มข้น 3.0 ppm.

นำเอา $CoSO_4$ 0.3 มิลลิกรัมมาละลายน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

3. การเตรียมเชื้อที่ใช้หมัก

3.1 เชื้อรา Rhizopus oligosporus (ภาพที่ 5.1)

หัวเชื้อรา R. oligosporus เตรียมขึ้นโดยนำปลายข้าวมาแช่น้ำ ทิ้งให้สะเด็ดน้ำ บรรจุใส่ฟลาสก์ขนาด 1 ลิตร โดยกระจายให้ปลายข้าวเกาะโดยรอบภายในฟลาสก์ นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 15 นาที ในหม้อนึ่งความดัน ถ่ายสปอร์ของเชื้อรา R. oligosporus (เลี้ยงในอาหาร PDA เป็นเวลา 5 วัน) บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส จนเกิดสปอร์สีดำโดยทั่ว อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมาผสมกับแป้งข้าวสาลี (ที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดยอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง) นำไปบด บรรจุในขวดปิดผนึก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

96513

ให้เรียบร้อย

3.2 เชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii 1250 (ภาพที่ 5.2)

เตรียมเชื้อโดยถ่ายเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 ในอาหาร Complete medium ซึ่งประกอบด้วย (กรัมต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร) กลูโคส 10.0 , ยีสต์สกัด 5.0 , acid hydrolysis of casein 1.0, panereatic digest of casein 1.5, biotin 0.0003, calcium pantothenate 0.004, NaH_2PO_4 1.6 , K_2PO_4 1.6, $MgCl_2.6H_2O$ 0.4, $FeSO_4.7H_2O$ 0.01 และ $CoSO_4.7H_2O$ 0.012 ปรับ pH เท่ากับ 6.8 ก่อนนำไปฆ่าเชื้อภายใต้ความดันที่ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว บ่มเชื้อที่ 35 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง จึงนำไปใช้ในการทดลอง

4. การหมัก (Fermentation)

ทำการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ 3 ชนิด โดยใช้ Aseptic Technique ดังนี้

4.1 เชื้อรา R. oligosporus นำเอาหัวเชื้อรา R. oligosporus ที่ชั่งแล้ว (0.25 กรัมต่อ 50 กรัมถั่วเหลืองที่เตรียมจากข้อ 1.1) มาใส่ในถั่วเหลืองที่เตรียมจากข้อ 1.1 คนให้ทั่ว

4.2 เชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 ปิเปตเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 1.0 มล. และสารละลาย $CoSO_4$ 0.1 มล. หยดลงในถั่วเหลืองที่เตรียมจากข้อ 1.1 ให้ทั่วจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นจึงคนให้ทั่วด้วย ช้อนตักสารสแตนเลส

4.3 เชื้อผสมของ R. oligosporus กับ P. shermanii 1250 ทำโดยนำเอาหัวเชื้อรา R. oligosporus มาใส่ในถั่วเหลืองที่เตรียมจากข้อ 1.1 แล้วจึงปิเปตเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 1.0 มล. และสารละลาย $CoSO_4$ 0.1 มล. ใส่ในถั่วเหลือง คนให้ทั่วด้วยช้อนตักสารสแตนเลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>หมายเหตุ</u> ในกรณีที่หมักถั่วเหลืองผสมเปลือก จะต้องนำเปลือกมาผสมกับถั่วเหลืองก่อนทำการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์

5. การบ่ม (Incubation)

นำจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่เชื้อเรียบร้อยแล้วเข้าตู้บ่มที่อุณหภูมิประมาณ 35 องศาเซลเซียส

6. การเก็บเกี่ยวผลิตภัณฑ์

หยุดการเจริญของเชื้อที่ใช้หมัก โดยนำเอาตัวอย่างที่หมักครบเวลาที่ต้องการแล้วนึ่งเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นทิ้งให้เย็น นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงจนแห้งแล้วนำมาบดให้ละเอียด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอนของการทดลอง

ก. การหาปริมาณของเปลือกถั่วเหลืองที่เหมาะสมในการหมักด้วยเชื้อรา R. oligosporus

โดยนำเอาถั่วเหลืองมาผสมกับเปลือกถั่วเหลืองในอัตราส่วน 0%, 2.5%, 5.0%, 7.5% และ 10.0% ของน้ำหนักถั่วเหลืองทั้งหมดตามลำดับ คลุกผสมให้ทั่วก่อนบรรจุใส่จานอาหารเลี้ยงเชื้อให้เต็ม จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งให้เย็นแล้วจึงใส่หัวเชื้อรา R. oligosporus คนให้ทั่ว นำไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อนำออกมาดูการเจริญเติบโตของเชื้อราเรียบร้อยจะหยุดการเจริญเติบโตของเชื้อราโดยนำไปนึ่งเป็นเวลา 30 นาที ทิ้งให้เย็นก่อนนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปบดเก็บตัวอย่างใส่ถุงพลาสติกมัดให้เรียบร้อย

ข. การเปรียบเทียบการหมักถั่วเหลืองผสมเปลือกปริมาณที่เหมาะสม (จากข้อ ก.) ด้วยเชื้อรา R. oligosporus , เชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 และเชื้อผสม R. oligosporus กับ P. shermanii 1250 ที่เวลาต่าง ๆ

ทำโดยแบ่งถั่วเหลืองออกเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกไม่ผสมเปลือกนำมาบรรจุใส่จานอาหารเลี้ยงเชื้อให้เต็ม ส่วนที่สอง นำมาผสมกับเปลือกปริมาณที่เหมาะสม คลุกให้เข้ากันก่อนบรรจุใส่จานอาหารเลี้ยงเชื้อให้เต็ม จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งให้เย็นนำมาหมักด้วยเชื้อรา R. oligosporus เชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 และเชื้อผสมของ P. shermanii 1250 กับ R. oligosporus นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 0 ชั่วโมง, 24 ชั่วโมง, 48 ชั่วโมง และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับ นำตัวอย่างที่บ่มครบเวลามาหยุดการเจริญโดยนำไปนึ่งเป็นเวลา 30 นาที ทิ้งให้เย็นก่อนนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงนำไปบดเก็บตัวอย่างใส่ถุงพลาสติกมัดให้เรียบร้อย นำเอาตัวอย่างทั้งหมดไปวิเคราะห์หาโปรตีน โดย Macro Kyeldahl method , total acidity และพีเอช (รายละเอียดอยู่ในภาคผนวก ก.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>หมายเหตุ</u> ตัวอย่างใดที่ยังไม่ได้ทำการวิเคราะห์หาโปรตีน, total acidity และ พีเอช ให้เก็บในช่องแช่แข็งของตู้เย็น.

ห้องสมุดกลางและเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง

ผลการทดลอง

1. ปริมาณของเปลือกถั่วเหลืองที่เหมาะสมในการหมักด้วยเชื้อรา Rhizopus oligosporus

เชื้อรา R. oligosporus สามารถเจริญได้ดีที่สุดในถั่วเหลืองที่ไม่มีการเติมเปลือก การเจริญเติบโตของเชื้อรา R. oligosporus ลดลงเมื่อปริมาณเปลือกถั่วเหลืองมากขึ้นตามลำดับ โดยสังเกตจากปริมาณเส้นใยสีขาวของเชื้อรา การที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากถั่วเหลืองซึ่งเป็นแหล่งอาหารของเชื้อรา R. oligosporus มีปริมาณลดลงเมื่อเติมเปลือกถั่วเหลืองซึ่งมีสารอาหารต่ำลงไปและเปลือกถั่วเหลืองยังมีไฟเบอร์สูง (สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร , 2527) จึงทำให้เชื้อรานี้สามารถย่อยและนำไปใช้ได้น้อย นอกจากนี้การผสมเปลือกถั่วเหลืองยังทำให้ความชื้นของถั่วเหลืองลดลง ซึ่งทำให้เกิดสภาวะที่ไม่เหมาะสมกับการเจริญของเชื้อรา R. oligosporus ดังแสดงในภาพที่ 4

ภาพที่ 4 การหมักถั่วเหลืองผสมเปลือกปริมาณ 0%,2.5%,5.0%,7.5% และ 10.0% ของน้ำหนักถั่วเหลืองทั้งหมดด้วยเชื้อรา Rhizopus oligosporus เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

เมื่อสังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อรา R. oligosporus ในถั่วเหลืองผสมเปลือก 2.5% และ 5.0% พบว่าที่การเจริญเติบโตของเชื้อนี้ไม่แตกต่างกันมากนักเมื่อเปรียบเทียบกับถั่วเหลืองหมักเชื้อรา R. oligosporus ดังนั้นปริมาณของเปลือก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถั่วเหลืองที่เหมาะสมที่จะใช้ในการผสมลงในถั่วเหลืองเพื่อใช้ในการศึกษาต่อไปมีปริมาณ 5% ของน้ำหนักถั่วเหลืองทั้งหมด.

2. การหมักถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% ด้วยเชื้อรา Rhizopus oligosporus, เชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii 1250 และเชื้อผสม R. oligosporus กับ P. shermanii 1250 ที่เวลาต่าง ๆ

การหมักถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% ที่ 0 ชั่วโมง ถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% มีสภาพคงเดิม เชื้อที่หมักทุกชนิดยังไม่มีการเจริญเติบโต

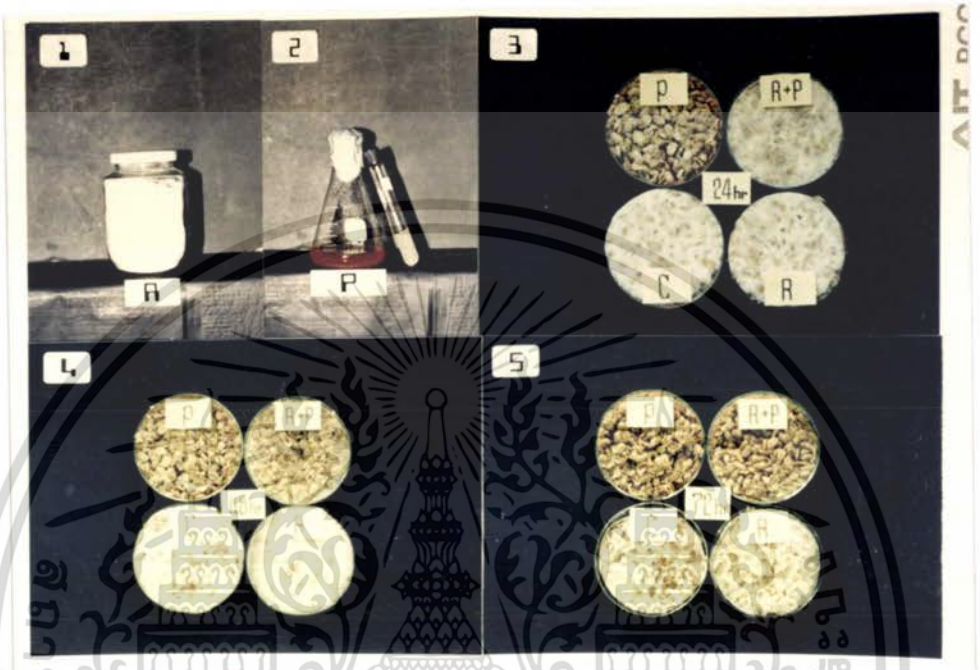
การหมักถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% ที่24 ชั่วโมง (ภาพที่ 5.3) พบว่า เชื้อรา R. oligosporus จะมีอัตราการเจริญเติบโตได้สูงสุดทั้งในถั่วเหลืองหมักเชื้อรา R. oligosporus , ถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% หมักเชื้อรา R. oligosporus อย่างเดียวและที่หมักด้วยเชื้อผสมของ R. oligosporus กับ P. shermanii 1250 โดยจะสังเกตเห็นได้ว่าจะมีเส้นใยสีขาวขึ้นปกคลุมทั่วทั้งจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ถั่วเหลืองถูกจับกันเป็นก้อนด้วยเส้นใยและเชื้อเปิดฝาจะได้กลิ่นหอมของถั่วเหลืองหมัก ส่วนเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 มีการเจริญเติบโตทั้งในถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% หมักเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 และที่หมักด้วยเชื้อผสมของ R. oligosporus กับ P. shermanii 1250 โดยเห็นได้ว่าถั่วเหลืองมีสีคล้ำขึ้นเล็กน้อย.

การหมักถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% ที่ 48 ชั่วโมง (ภาพที่ 5.4) พบว่า เชื้อรา R. oligosporus มีอัตราการเจริญเติบโตลดลงทั้งในถั่วเหลืองหมักเชื้อรา R. oligosporus , ถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% หมักเชื้อรา R. oligosporus อย่างเดียวและที่หมักด้วยเชื้อผสมของ R. oligosporus กับ P. shermanii 1250 กล่าวคือ ปริมาณเส้นใยสีขาวยังคงเท่าเดิมหรือเพิ่มขึ้นเล็กน้อย กลิ่นหอมของถั่วเหลืองหมักลดลง ส่วนเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 มีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นทั้งในถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% หมักเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 และที่หมักด้วยเชื้อผสมของ R. oligosporus กับ P. shermanii 1250 โดยจะเห็นว่าถั่วเหลืองจะคล้ำขึ้นอีก ถั่วเหลืองจะมีลักษณะแฉะและมีน้ำเหนียวระหว่างเมล็ด.

การหมักถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% ที่ 72 ชั่วโมง (ภาพที่ 5.5) พบว่า เชื้อรา R. oligosporus มีอัตราการเจริญเติบโตลดลงทั้งในถั่วเหลืองหมักเชื้อรา R. oligosporus กับ P. shermanii 1250 โดยจะสังเกตเห็นได้ว่าปริมาณเส้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใยสีขาวขึ้นปกคลุมน้อยลง ถั่วเหลืองจะแห้งแข็งมีสีคล้ำขึ้น ไม่มีกลิ่นหอมเมื่อเปิดฝา แต่เชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 ยังคงมีการเจริญเติบโต โดยพบว่าถั่วเหลืองจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอ่อนมีน้ำเหนียวเยิ้มระหว่างเมล็ดถั่วมากยิ่งขึ้น.



ภาพที่ 5 การหมักถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% ด้วยเชื้อรา Rhizopus oligosporus (R), เชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii 1250 (P) และเชื้อผสมของ R. oligosporus กับ P. shermanii 1250 (R+P) ที่เวลาต่าง ๆ โดยเปรียบเทียบกับถั่วเหลืองปรากฏจากเปลือกผสมหมักด้วยเชื้อรา R. oligosporus (C)

จะเห็นได้ว่าภายหลังจาก 24 ชั่วโมง เชื้อราจะมีการสร้างสปอร์เกิดขึ้นในถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% ที่หมักด้วยเชื้อรา R. oligosporus แต่มีเพียงเล็กน้อยในถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% ที่หมักด้วยเชื้อผสมของ R. oligosporus กับ P. shermanii 1250 ในกรณีของถั่วเหลืองผสมเปลือกที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 สังเกตเห็นการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้อย่างชัดเจน เนื่องจากความชื้นของถั่วเหลืองผสมเปลือกนั้นเพียงพอต่อการเจริญเติบโตของมัน

อย่างไรก็ตามในการหมักผสมเปลือกด้วยเชื้อผสมของ R. oligosporus กับ P. shermanii 1250 นั้น การเจริญเติบโตของเชื้อราจะลดลงภายหลังจากการหมักที่ 24 ชั่วโมง เนื่องจากเมื่อเชื้อราเจริญจะมีการหายใจทำให้เกิดหยดน้ำกลับมาที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถั่วเหลืองที่หมักทำให้ความชื้นเพิ่มมากขึ้น ซึ่งทำให้เกิดสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 ภายหลังจากเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 เจริญขึ้นมาจะสร้างกรดโปรปิโอนิคที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยของเชื้อรา (fungistatic) ทำให้เชื้อราเจริญลดลง.

3. การเปลี่ยนแปลงโปรตีนในถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% หมักเชื้อรา Rhizopus oligosporus, เชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii 1250 และเชื้อผสมของ R. oligosporus กับ P. shermanii 1250 ที่เวลาต่าง ๆ

ปริมาณโปรตีนของทั้งถั่วเหลืองและถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% หมักด้วยเชื้อรา Rhizopus oligosporus มีความแตกต่างกันเมื่อใช้เวลาในการหมักต่างกัน (ภาพที่ 6-1) โดยถั่วเหลืองหมักจะมีปริมาณโปรตีนสูงกว่าถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% หมักเล็กน้อยเนื่องจากเปลือกถั่วเหลืองมีโปรตีนต่ำเมื่อเทียบกับถั่วเหลือง ดังนั้นเมื่อผสมเปลือกถั่วเหลืองลงไปจึงทำให้โปรตีนในถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% ลดลงไปด้วย ตามปกติแล้วภายหลังจากการหมักเทมเป้ ปริมาณโปรตีนจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อย อย่างไรก็ตามผลของการหมักที่ได้กลับตรงข้ามจะเห็นได้ว่าโปรตีนทั้งในเทมเป้ที่ทำจากถั่วเหลืองหรือถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% ต่ำลงมาเล็กน้อยเนื่องจากเกิดการย่อยสลายของโปรตีนออกมาอันเนื่องมาจากกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส ดังนั้นแสดงว่าในสภาพการหมักที่ทำการทดลองนี้เกื้อหนุนต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสที่ผลิตจากเชื้อรา R. oligosporus ถึงแม้ว่าเชื้อรา R. oligosporus สามารถย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์โปรติเอสได้ แต่ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดยังคงที่และถ้าเพิ่มเวลาในการหมักให้มากกว่า 90 ชม. การหมักจะเข้าสู่ช่วงสุดท้ายหรือ Deterioration phase ช่วงนี้ถั่วเหลืองจะมีลักษณะแห้งแข็ง มีสีคล้ำ เนื้อสัมผัสและรสชาติเสีย มีกลิ่นแอมโมเนียเกิดขึ้น การเกิดแอมโมเนียนี้ทำให้ปริมาณโปรตีนลดลงเพราะมีการสูญเสียไนโตรเจน

การตรวจสอบทางสถิติพบว่าปริมาณโปรตีนในถั่วเหลืองและถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% ที่หมักด้วยเชื้อราที่เวลาการหมักต่าง ๆ ไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ภาคผนวก ข.1.1-1.2)

ในกรณีที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1250 ปริมาณโปรตีนในถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% น้อยกว่าปริมาณโปรตีนในถั่วเหลืองที่เวลาการหมักต่าง ๆ เล็กน้อย (ภาพที่ 6-2) เนื่องจากการเติมเปลือกถั่วเหลืองซึ่งมีปริมาณโปรตีนต่ำลงในถั่วเหลืองทำให้ปริมาณโปรตีนในถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% ลดลง โดยพบว่าช่วงของการหมักตั้งแต่ 0 ถึง 48 ชม. ปริมาณโปรตีนมีความแตกต่างกันมาก แต่เมื่อเลยช่วงการหมัก 48 ชม.ไปแล้วปริมาณโปรตีนระหว่างถั่วเหลืองหมักและถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% หมักใกล้เคียงกันมาก

การตรวจสอบทางสถิติ พบว่าปริมาณโปรตีนทั้งในถั่วเหลืองและถั่วเหลืองผสมกับเปลือก 5% หมักเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 ที่เวลาการหมักต่าง ๆ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ภาคผนวก ข.2.1-ข.2.2) แสดงว่าเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 นี้ได้ใช้โปรตีนไปน้อยมากในระหว่างการหมัก จุดประสงค์ของการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อนี้เพื่อต้องการให้เชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 นี้สังเคราะห์วิตามินบี12 ซึ่งอาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อมีหลายอย่างแต่อาหารหลักคือ น้ำตาลกลูโคส โดยเชื้อนี้จะได้รับจากถั่วเหลือง ดังนั้นโปรตีนในถั่วเหลืองซึ่งไม่ได้เป็นอาหารหลักจึงถูกใช้ไปน้อยมาก

ปริมาณโปรตีนทั้งในถั่วเหลืองและถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% ที่หมักด้วยเชื้อผสมของ Rhizopus oligosporus กับ Propionibacterium shermanii 1250 นี้ความแตกต่างกันที่เวลาการหมักต่าง ๆ (ภาพที่ 6-3) โดยปริมาณโปรตีนในถั่วเหลืองหมักมากกว่าปริมาณโปรตีนในถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% หมัก เนื่องจากการเติมเปลือกถั่วเหลืองซึ่งมีปริมาณโปรตีนต่ำลงในถั่วเหลืองจึงทำให้ถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% มีปริมาณโปรตีนลดลง การเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนทั้งในถั่วเหลืองและถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% หมักเชื้อผสมนี้ในช่วงเวลาการหมักต่าง ๆ มีลักษณะไปในแนวเดียวกันแสดงว่าการเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนในช่วงเวลาการหมักต่าง ๆไม่แตกต่างกัน ซึ่งจากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนในถั่วเหลืองและถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% หมักเชื้อรา R. oligosporus

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 ที่เวลาการหมักต่าง ๆไปแล้วข้างต้น จะเห็นได้ว่าปริมาณโปรตีนไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนของถั่วเหลืองและถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% ที่หมักเชื้อผสมนี้จึงไม่มีการเปลี่ยนแปลงด้วย ถึงแม้ว่าในการหมักด้วยเชื้อผสมนี้จะใช้เชื้อถึง 2 ชนิดร่วมกัน ปริมาณโปรตีนน่าจะถูกใช้ไปมากกว่าการหมักโดยใช้เชื้อเดี่ยว ๆ แต่เนื่องจากเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 สามารถสร้างกรดโปรปิโอนิคออกมาทำให้เชื้อรา R. oligosporus มีการเจริญน้อยลง ดังนั้นการใช้โปรตีนในถั่วเหลืองจึงถูกใช้ไปน้อยซึ่งเมื่อทำการตรวจสอบทางสถิติพบว่าปริมาณโปรตีนทั้งในถั่วเหลืองหมักและถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% หมักเชื้อผสมนี้ที่เวลาต่าง ๆ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ภาคผนวก 3.1-3.2)

4. การเปลี่ยนแปลงของพีเอช (pH) และ Total acidity ในถั่วเหลืองและถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% หมักเชื้อรา Rhizopus oligosporus , เชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii 1250 และเชื้อผสมของ R. oligosporus กับ P. shermanii 1250 ที่เวลาต่าง ๆ

พีเอชของถั่วเหลืองและถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% หมักเชื้อรา R. oligosporus, เชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 และเชื้อผสมของ R. oligosporus กับ P. shermanii 1250 มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในช่วงระหว่างพีเอช 6.0-7.0 (ภาพที่ 7) เมื่อเวลาที่ใช้หมักเพิ่มขึ้น แสดงว่าพีเอชดังกล่าวเป็นพีเอชที่เหมาะสมในการหมักเชื้อเหล่านี้และการที่พีเอชมีการเพิ่มขึ้นนี้ เกิดเนื่องจากการปลดปล่อยแอมโมเนียออกมา (Shurtleff and Aoyagi , 1985)

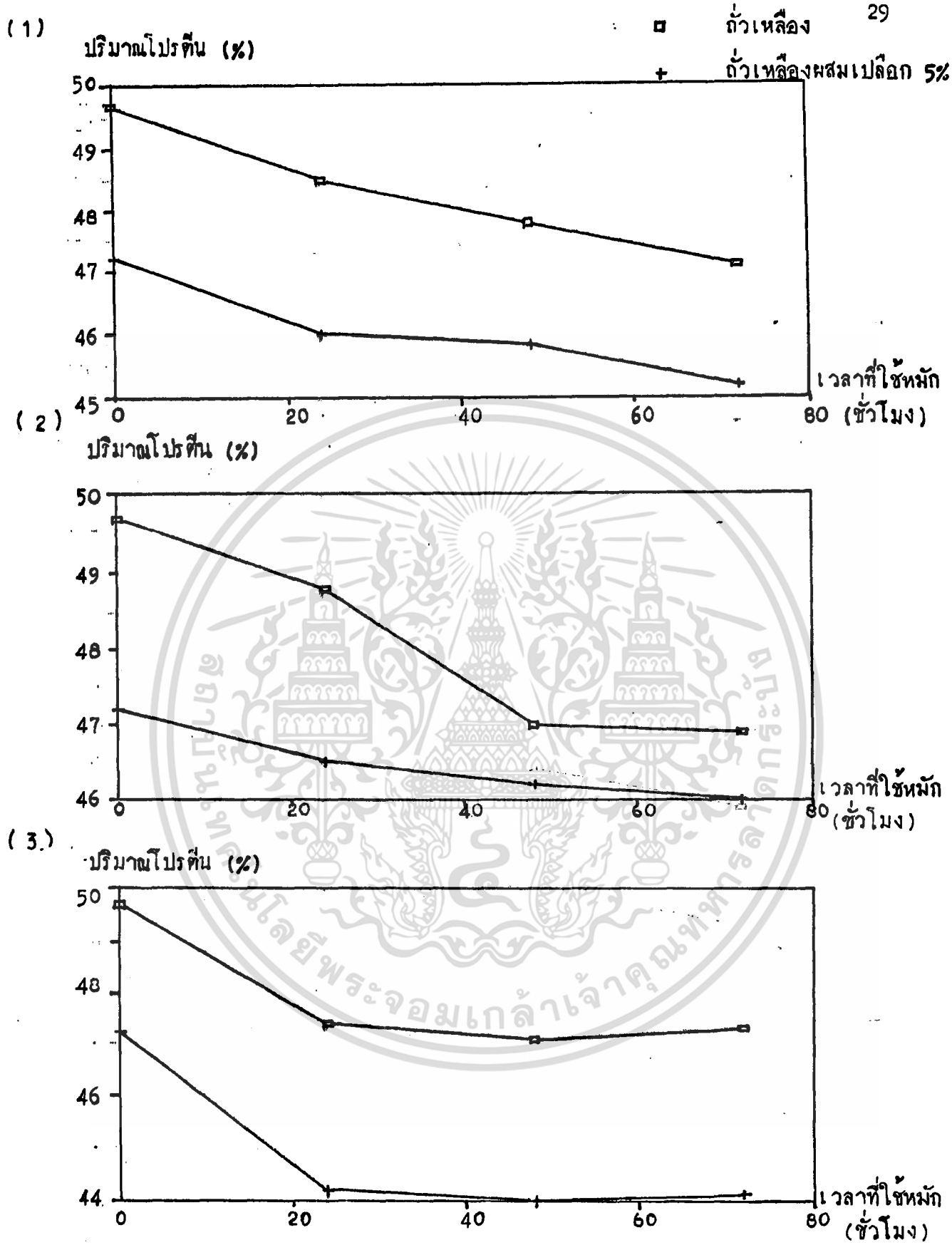
พีเอชในช่วงนี้เป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 ซึ่งเป็นเชื้อที่ใช้ในการผลิตวิตามินบี 12 ดังนั้นจึงพอจะกล่าวได้ว่าสภาพการหมักนี้เหมาะสมต่อการสร้างวิตามินบี 12 จากเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 ในเทมเป้

Total acidity ของถั่วเหลืองและถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% หมักเชื้อรา R. oligosporus เชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 และเชื้อผสมของ R. oligosporus กับ P. shermanii 1250 มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาที่ใช้หมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 8) ทั้งนี้เนื่องจากในช่วงการหมักเชื้อเหล่านี้ได้ทำการย่อยสลายอาหาร ให้มีให้มีโมเลกุลเล็กลง ซึ่งสารอาหารที่มีโมเลกุลเล็ก ๆ เหล่านี้ได้แก่ กรดไขมัน กรดอะมิโน เป็นต้น นอกจากนี้เชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 ยังสามารถสร้างกรดโปรปิโอนิค ได้อีกด้วย.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 6 ปริมาณโปรตีนในถั่วเหลืองและถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% หมักด้วย :

(1) เชื้อรา Rhizopus oligosporus

(2) เชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii 1250

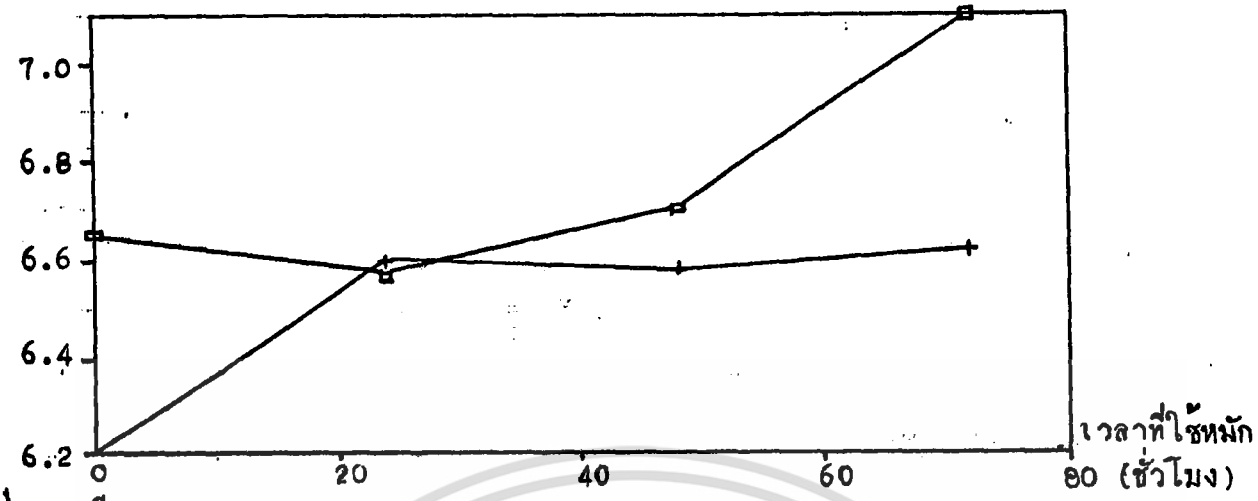
(3) เชื้อผสมของ R. oligosporus กับ P. shermanii 1250 ที่เวลาต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

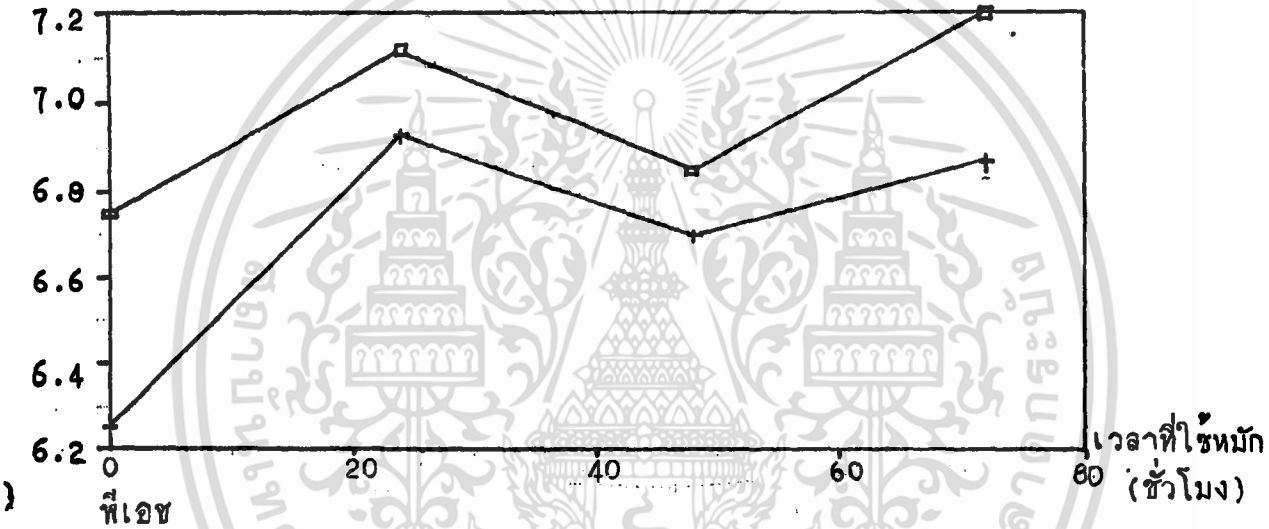
(1) พีเอช

□ ถั่วเหลือง 30

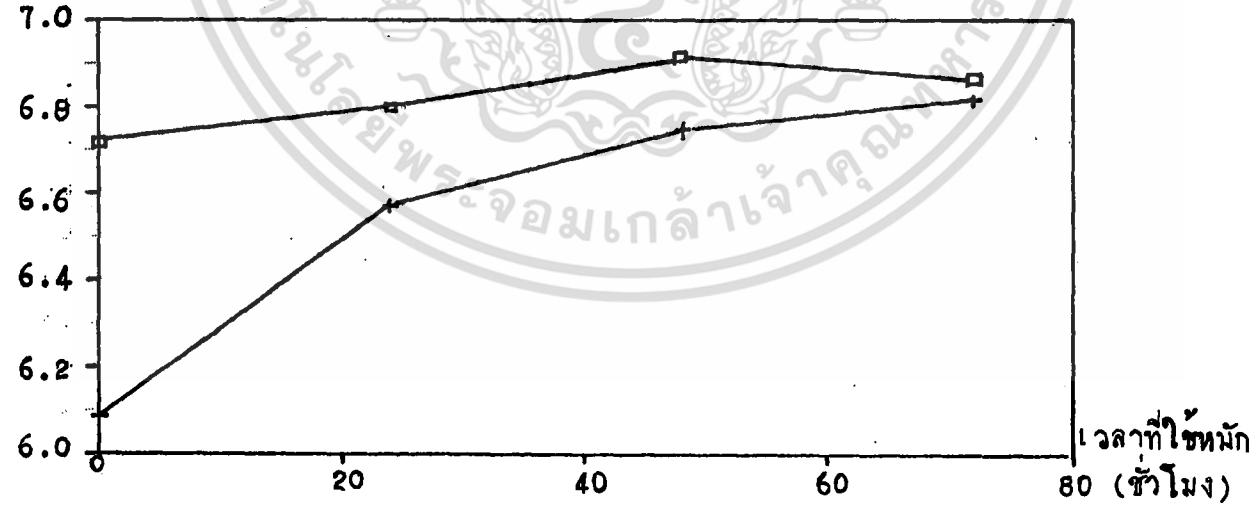
\+ ถั่วเหลืองผสมเปลือก 5%



(2) พีเอช



(3) พีเอช



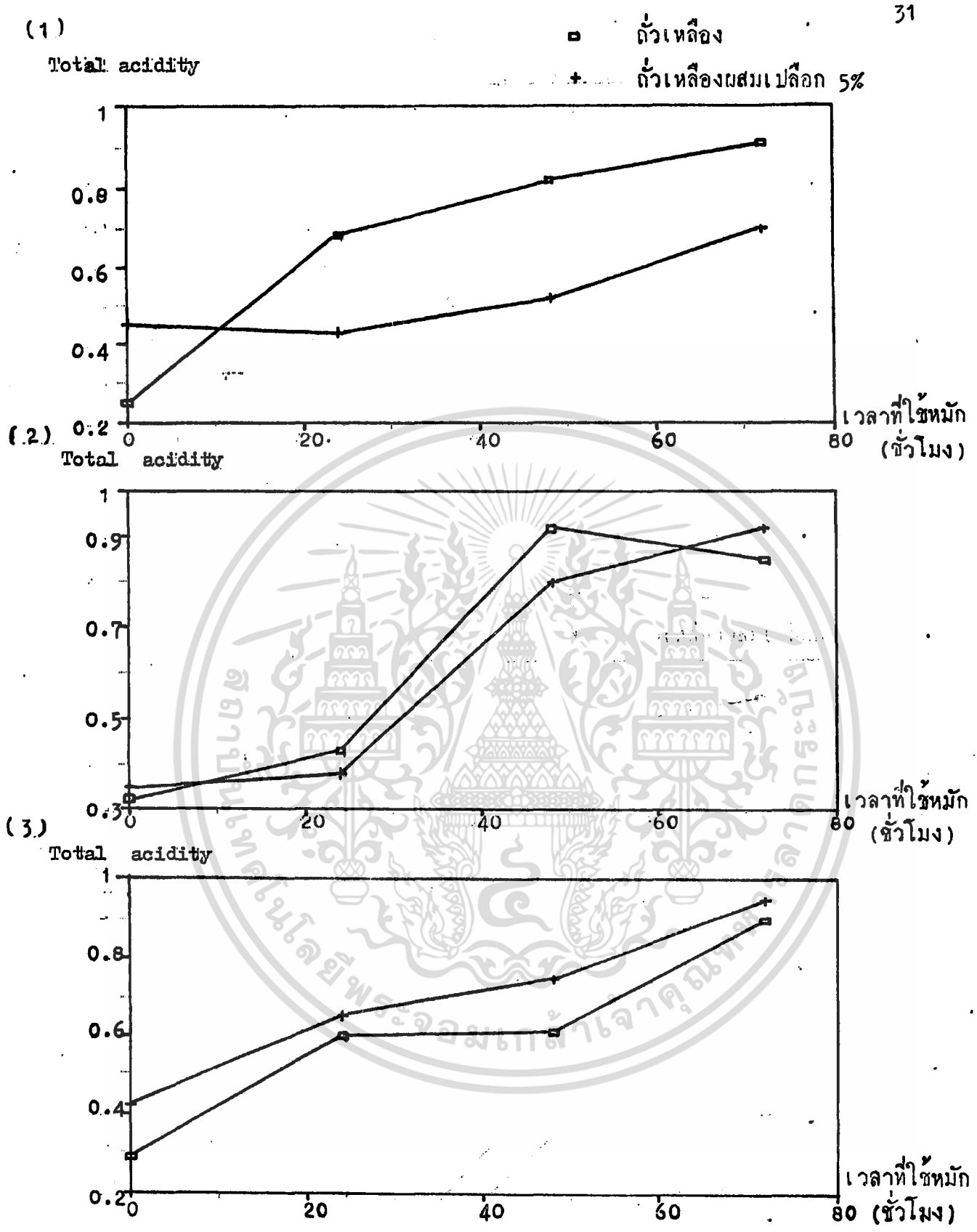
ภาพที่ 7 พีเอช(pH) ของถั่วเหลืองและถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% หมักด้วย :

(1) เชื้อรา Rhizopus oligosporus

(2) เชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii 1250

(3) เชื้อผสมของ R. oligosporus กับ P. shermanii 1250 ที่เวลาต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 8 Total acidity ของถั่วเหลืองและถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% หมักด้วย :

(1) เชื้อรา Rhizopus oligosporus

(2) เชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii 1250

(3) เชื้อผสมของ R. oligosporus กับ P. shermanii 1250 ที่เวลาต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อรา Rhizopus oligosporus พบว่าเชื้อนี้สามารถเจริญได้ดีที่สุดในถั่วเหลืองที่ไม่ได้ผสมเปลือก แต่เมื่อเติมเปลือกถั่วเหลืองในปริมาณที่ไม่เกิน 10% ของน้ำหนักถั่วเหลืองทั้งหมด พบว่าเชื้อนี้ยังสามารถเจริญได้ดีในถั่วเหลืองที่เติมเปลือก ปริมาณน้อยมากกว่า ถั่วเหลืองผสมเปลือกอาจเนื่องจากเปลือกมีความเหนียวแข็งดูดซึมน้ำจากถั่วเหลืองได้ทำให้ถั่วเหลืองแห้ง นอกจากนี้เปลือกถั่วเหลืองยังมีปริมาณสารอาหารต่ำเมื่อเทียบกับถั่วเหลืองซึ่งมีสารอาหารค่อนข้างสูง เมื่อสังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อนี้ที่เวลาหมักเป็น 72 ชั่วโมง พบว่าถั่วเหลืองจะอยู่ในสภาพที่ไม่ค่อยดี กล่าวคือ เมล็ดถั่วจะแห้งแข็ง มีสีคล้ำ เส้นใยสีขาวเบาบางลง มีกลิ่นแอมโมเนีย กลิ่นแอมโมเนียอาจเกิดเนื่องจากการย่อยกรดอะมิโนในถั่วเหลืองของเชื้อรา R. oligosporus นี้

2. การหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii 1250 พบว่าเชื้อนี้สามารถเจริญได้ดีทั้งในถั่วเหลืองและถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% หมัก แสดงว่าเปลือกถั่วเหลืองไม่มีผลต่อการเจริญของเชื้อนี้ เมื่อสังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อนี้ที่เวลาหมักต่าง ๆ พบว่าในช่วง 24 ชั่วโมงเชื้อนี้มีการเจริญเพียงเล็กน้อย แต่เมื่อเวลาหมักเพิ่มมากขึ้น ถั่วเหลืองและถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% หมักจะมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มมากขึ้น โดยสีของถั่วเหลืองจะคล้ำขึ้น

3. การหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อผสมของ Rhizopus oligosporus กับ Propionibacterium shermanii 1250 เชื้อผสมนี้สามารถเจริญได้ในถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% แต่พบว่าเชื้อรา R. oligosporus จะเจริญได้น้อยกว่าในสภาพถั่วเหลืองผสมเปลือกที่หมักด้วยเชื้อรา R. oligosporus เพียงอย่างเดียว แสดงว่า การเจริญของเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 มีผลต่อการเจริญของเชื้อรา R. oligosporus โดยขณะหมัก เชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 จะมีการสร้างกรดโปรปิโอนิคออกมาเล็กน้อย (ภาพที่ 8.2) ซึ่งมีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ R. oligosporus ลักษณะของถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% เมื่อหมักด้วยเชื้อผสมนี้จะมีลักษณะผสมคือมีทั้งเส้นใยสีขาวของเชื้อรา R. oligosporus ปกคลุมและถั่วเหลืองเปลี่ยนแปลงเป็นสีน้ำตาลอ่อนของเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. เมื่อนำตัวอย่างของถั่วเหลืองและถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% ที่หมักด้วยเชื้อรา R. oligosporus , เชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 และเชื้อผสมของ R. oligosporus กับ P. shermanii 1250 ที่เวลาการหมักต่าง ๆไปวิเคราะห์ crude proteim เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนพบว่าปริมาณโปรตีนทั้งในถั่วเหลืองและถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% ที่หมักด้วยเชื้อทั้ง 3 ชนิด ที่เวลาการหมักต่าง ๆ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและเมื่อเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนระหว่างถั่วหลืองและถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% หมักด้วยเชื้อทั้ง 3 ชนิดที่เวลาการหมักต่าง ๆ พบว่า ถั่วเหลืองหมักมีปริมาณโปรตีนสูงกว่าถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% หมักเล็กน้อยเนื่องจากเปลือกถั่วเหลืองมีโปรตีนต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับถั่วเหลือง ดังนั้นเมื่อผสมเปลือกถั่วเหลืองลงไปจึงทำให้ปริมาณโปรตีนในถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% ลดลงไปด้วย แต่การเพิ่มเปลือกถั่วเหลืองลงในปริมาณ 5% เป็นการช่วยลดค่าใช้จ่ายในการหมัก โดยที่คุณค่าอาหารทางด้านโปรตีนยังคงใกล้เคียงกับถั่วเหลืองที่ไม่ได้ผสมเปลือกหมัก และในถั่วเหลืองผสมเปลือกที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 หมัก ด้วยจะเพิ่มวิตามินบี12 อีกด้วย เนื่องจากมีการศึกษาพบว่าเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii สามารถสังเคราะห์วิตามินบี12 ได้ซึ่งวิตามินบี 12 นี้ไม่พบในพืชผักแต่จะพบในสัตว์เป็นส่วนมาก ดังนั้นถ้าสามารถเพิ่มวิตามินบี12 ในถั่วเหลืองได้ก็จะช่วยเพิ่มแหล่งของอาหารที่มีวิตามินบี12 ได้อีกแหล่งหนึ่ง ซึ่งจะช่วยลดปัญหาการขาดวิตามินบี12 ในผู้ที่รับประทานอาหารแบบมังสวิรัติได้ด้วย

การที่เวลาในการหมักเชื้อต่างๆในถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% หมักไม่มีผลต่อปริมาณโปรตีนจึงควรเก็บเกี่ยวถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% หมักที่ 24 ชั่วโมง เพราะถั่วเหลืองผสมเปลือกหมักเชื้อต่าง ๆ นี้จะมีลักษณะที่ดีที่สุด เหมาะกับการนำไปปรุงเป็นอาหาร ถ้าเลยช่วงนี้ไปแล้วถั่วเหลืองผสมเปลือกหมักจะมีลักษณะไม่ค่อยดีโดยจะมีลักษณะดังกล่าวไปแล้วข้างต้น นอกจากนี้การเก็บเกี่ยวที่ 24 ชั่วโมงจะประหยัดเวลาอีกด้วย.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. พีเอชและ total acidity ในถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% หมักเชื้อรา R. oligosporus ,เชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 และเชื้อผสมของ R. oligosporus กับ P. shermanii 1250 ที่เวลาการหมักต่าง ๆ มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น การที่ total acidity มีการเพิ่มขึ้นนี้เนื่องจากถั่วเหลืองและถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% ถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์จากเชื้อเหล่านี้ทำให้อาหารมีโมเลกุลเล็กลง ซึ่งโมเลกุลเล็ก ๆ เหล่านี้ได้แก่กรดไขมัน กรดอะมิโน ฯลฯ ดังนั้นจึงทำให้ total acidity เพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ยังผลจากกรดที่ผลิตขึ้นโดยเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 อีกด้วยส่วนพีเอชนี้เพิ่มขึ้นมากในช่วงหลังของการหมักด้วยเชื้อรา R. oligosporus และเชื้อผสมของ R. oligosporus กับ P. shermanii 1250 เนื่องจากการหมักในช่วงนี้เข้าสู่ Deterioration phase ทำให้ถั่วเหลืองอยู่ในสภาพที่ไม่ดี มีการปลดปล่อยแอมโมเนียออกมา พีเอชจึงเพิ่มสูงขึ้น สำหรับการหมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 นี้ พีเอชน่าจะลดลงเมื่อเวลาการหมักเพิ่มขึ้น แต่จากผลการทดลองพบว่า พีเอชมีการเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงแรกและคงที่ในช่วงหลัง ซึ่งพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 อยู่ในช่วง 6.1-6.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

1. กรมอนามัย . 2532 . ข้อกำหนดสารอาหารที่ควรได้รับประจำวันและแนวทางการบริโภคอาหารสำหรับคนไทย . กระทรวงสาธารณสุข . โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก .

2. ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์ . 2524 . จุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์เกษตร . ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะเกษตร . มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ .

3. ลาวัณย์ ไกรเดช . 2519 . เทมเป้และผลิตภัณฑ์เลียนแบบเทมเป้ . อาหาร . ฉบับที่ 8 . หน้า 21-27 .

4. วราวุฒิ ครูส่ง และรุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต . 2532 . เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม . สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์ . ISBN 974-276-504-9 .

5. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร . 2527 . ถั่วเหลืองและการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย . มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ .

6. สุวิมล โตวิวิชญ์ . 2516 . การเปลี่ยนแปลงส่วนประกอบทางเคมีใน Tempeh Fermentation . สัมมนาปริญญาโท . ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะเกษตร . มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ .

7. เสาวนีย์ จักรพิทักษ์ . 2532 . หลักโภชนาการปัจจุบัน . บริษัทโรงพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช จำกัด .

8. อนุชิต วัฒนะไพบูลย์สุข . 2519 . การนำเทมเป้จากถั่วและกากถั่ว . ปัญหาพิเศษ . ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะเกษตร . มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ .

9. อรพิน ภูมิภมร . 2526 . จุลินทรีย์ที่สำคัญต่ออุตสาหกรรมเกษตร สิ่งแวดล้อม .ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ .

10. อรพิน ภูมิภมร . 2523 . ผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมการหมัก . ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะเกษตร . มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

11. Beuchat , L.R. 1984 . Fermented Soybeam Foods . Food Tech . 38 : 69-70

12. Shurtleff , W. and A. aoyagi . 1985 . The book of Tempeh , 2nd ed. Harper colophon Book . New York .

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.
วิธีการวิเคราะห์

การวิเคราะห์พีเอช (pH)

เตรียมตัวอย่างโดยชั่งมาประมาณ 1 กรัม เติมน้ำกลั่น pH 7.0 แช่ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง จากนั้นนำมาวัด pH (เมื่อเปลี่ยนตัวอย่างควรใช้น้ำกลั่นฉีดล้าง Probe แล้วซับด้วยกระดาษทิชชูทุกครั้ง และเมื่อใช้พีเอชมิเตอร์เสร็จเรียบร้อยแล้ว ควรฉีดล้าง Probe ด้วยน้ำกลั่น จากนั้นจึงนำไปแช่ในน้ำกลั่น)

การวิเคราะห์ Total Acidity

1. สารเคมี

1.1 เตรียมสารละลาย NaOH 0.1 $\underline{N}$ โดยชั่งเกล็ด NaOH มา 4 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 1000 มล. จากนั้นนำมาหาความเข้มข้นที่แน่นอน โดยนำมาไตเตรทกับสารละลายมาตรฐาน โปตัสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต (KHP) โดยใช้สารละลายฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ บันทึกปริมาตรของ NaOH เมื่อสารละลายมาตรฐาน KHP เปลี่ยนเป็นสีชมพูถาวร (ไม่เปลี่ยนสีเมื่อตั้งทิ้งไว้) การคำนวนหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลาย NaOH คำนวนโดยใช้หลักที่ว่า

จำนวนโมลของสารละลาย KHP = ปริมาตรของสารละลาย NaOH × ความเข้มข้นของสารละลาย NaOH ซึ่งจำนวนโมลของสารละลาย KHP หาได้จากน้ำหนักของ KHP ที่นำมาใช้หารด้วยน้ำหนักโมเลกุลของ KHP

1.2 เตรียมสารละลายมาตรฐานโปตัสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต (KHP) โดยนำเอา KHP ไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ แล้วนำมาชั่งละเอียดพร้อมทั้งบันทึกน้ำหนักให้อยู่ในช่วง 0.6000-0.7000 กรัม จากนั้นนำมาละลายด้วยน้ำกลั่น 50 มล.

2. วิธีการวิเคราะห์

ชั่งตัวอย่างมาประมาณ 1 กรัม เติมน้ำกลั่น 100 มล. แล้วกรองด้วยสำลีหรือกระดาษทิชชู ปิเปตส่วนใสมา 50 มล. ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มล. ใส่สารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 0.1 มล. นำมาไตเตรทด้วย 0.1$\underline{N}$ NaOH จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อนถาวร บันทึกปริมาตรของสารละลาย NaOH ที่ใช้แล้วนำมาคำนวนหา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

% Total Acidity ดังนี้

$$\% \text{ Total Acidity} = \frac{\text{ml ของ NaOH} \times \bar{N} \text{ ของ NaOH} \times \text{eq. wt of propionic acid} \times 100}{\text{น้ำหนักของตัวอย่าง} \times 1000}$$

การวิเคราะห์ Crude Protein โดย Macro - Kjeldhal method

1. สารเคมี

1.1 เตรียมสารละลายบอริค 2% โดยชั่งผลึกของกรดบอริคมา 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่นที่ต้มแล้ว ปรับปริมาตรให้ได้ 500 มล. เก็บไว้ในขวดที่มีจุกแก้วปิด

1.2 เตรียมคาตาลิส โดยนำเอา K_2SO_4 100 กรัมผสมกับ $CuSO_4.5H_2O$ 20 กรัมคนให้ทั่ว

1.3 เตรียม Mixed indicator โดยนำเอา Bromocresol green 0.1 กรัม ละลายในแอลกอฮอล์ 100 มล. จะได้ 0.1% Bromocresol greon และนำเอา Methyl red 0.1 กรัมละลายในแอลกอฮอล์ 100 มล. จะได้ 0.1% Methyl red จากนั้นนำมาผสมกันโดยใช้สารละลาย 0.1% Bromocresol green 10 มล. และ 0.1% Methyl red 2 มล.

1.4 เตรียมสารละลาย HCl 0.1 $\bar{N}$ โดยตวงเอาสารละลาย HCl เข้มข้นมาประมาณ 1 มล. เจือจางด้วยน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 1000 มล. นำมาหาความเข้มข้นที่แน่นอนโดยนำไปไตเตรทกับสารละลาย NaOH ที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน ใช้ฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ บันทึกปริมาตรของสารละลาย NaOH เมื่อสารละลาย HCl เปลี่ยนเป็นสีชมภูถาวร สามารถคำนวนหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลาย HCl นี้โดย

ความเข้มข้นที่แน่นอนของ NaOH × ปริมาตรของ NaOH = ความเข้มข้นที่แน่นอนของ HCl × ปริมาตรของ HCl

1.5 เตรียมสารละลาย NaOH 32% โดยละลายเกล็ด NaOH 320 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ขณะละลายจะมีความร้อนเกิดขึ้น ฉะนั้นควรทำการละลายในตู้ดูดควัน ทิ้งไว้ให้เย็น จึงนำไปบรรจุในถังพลาสติกของชุดกลั่นโปรตีน

2. วิธีการวิเคราะห์

ชั่งตัวอย่างโดยใช้เครื่องชั่งละเอียดประมาณ 1 กรัมพร้อมทั้งบันทึก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำหนัก ห่อด้วยกระดาษวาดเขียนสีขาวใส่ลงใน Digestion flask เติมคาตาลิส 5 กรัม และเติมกรดซัลฟุริกเข้มข้น 25 มล.นำไปย่อยในชุดย่อยโปรตีนที่เปิดเครื่องดูดควันเรียบร้อยแล้วโดยใช้ความร้อนต่ำในช่วงแรกแล้วค่อย ๆ เพิ่มความร้อนมากขึ้น หลังจากที่ย่อยไปได้แล้วประมาณ 45 นาที ย่อยจนได้สารละลายสีเขียวใสไม่มีสารสีดำติดอยู่ด้านของฟาสก์ แล้วย่อยต่อไปอีกครึ่งชั่วโมงจึงปิดเตาย่อย ทิ้งให้สารละลายเย็นและหมดควันจึงนำเอาไปกลั่นในชุดกลั่นโปรตีนโดยเอา Digestion flask ต่อเข้ากับชุดกลั่น กดปุ่มน้ำกลั่นจนมีปริมาตรเป็น 100 มล. และกดปุ่มสารละลาย NaOH จนสารละลายสีเขียวใสเปลี่ยนเป็นสีดำทั้งหลอด จึงกดสวิทช์ Start Distillation โดยก่อนกดปุ่มตวงสารละลายบอริคมา 100 มล. ใส่ในขอดรูปชมพู่หยดมิกซ์อินดิเคเตอร์ 3-4 หยด จึงนำไปวางตรงที่สำหรับวางหลอดโดยเฉพาะและให้ปลายหลอดนำก๊าซจุ่มลงในสารละลายบอริค การกลั่นใช้เวลา 3 นาที เมื่อสิ้นสุดการกลั่นสารละลายบอริคจะมีปริมาตรเพิ่มขึ้นประมาณ 100 มล. และจะเปลี่ยนไปเป็นสารละลายสีฟ้าใส จากนั้นจึงนำไปไตเตรทกับสารละลาย HCl 0.1 $\underline{N}$ จนได้สารละลายสีชมพูอ่อน บันทึกปริมาตรของ HCl (V) หา Blank โดยใช้กระดาษวาดเขียนสีขาวแทนตัวอย่าง จะทราบปริมาตรของสารละลาย HCl (V) สามารถคำนวนหา% Crude Protein ดังนี้

$$\% \text{ Crude Protein} = (1.4VN \times 6.25)/ W_s$$

$V = V_1 - V_2$, N = ความเข้มข้นของสารละลาย HCl , W_s = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

ผลการตรวจสอบความแตกต่างของปริมาณโปรตีนโดยใช้สถิติแบบ

Completely Randomize Design (CRD)

ภาคผนวก ข.1.1 ผลการตรวจสอบทางสถิติเพื่อทดสอบความแตกต่างของปริมาณโปรตีนในถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อรา R. oligosporus ที่เวลาต่าง ๆ

SOV	d.f.	SS	MS	F_{cal}	$F_{0.05}$	$F_{0.01}$
Between treatment	3	21.78	7.26	1.10 ns	4.07	7.59
Residual	8	52.77	6.596			
Total	11	74.55				

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ภาคผนวก ข.1.2 ผลการตรวจสอบทางสถิติเพื่อทดสอบความแตกต่างของปริมาณโปรตีนในถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% หมักด้วยเชื้อรา R. oligosporus ที่เวลาต่าง ๆ

SOV	d.f.	SS	MS	F_{cal}	$F_{0.05}$	$F_{0.01}$
Between treatment	3	18.80	6.27	1.98 ns	4.07	7.59
Residual	8	25.39	3.17			
Total	11	44.19				

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.2.1 ผลการตรวจสอบทางสถิติเพื่อทดสอบความแตกต่างของปริมาณโปรตีนในถั่วเหลืองหมักเชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii 1250 ที่เวลาต่าง ๆ

SOV	d.f.	SS	MS	F_{cal}	$F_{0.05}$	$F_{0.01}$
Between treatment	3	468.31	156.10	0.78 ns	4.07	7.59
Residual	8	1594.997	199.37			
Total	11	2063.31				

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ภาคผนวก ข.2.2 ผลการตรวจสอบทางสถิติเพื่อทดสอบความแตกต่างของปริมาณโปรตีนในถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% หมักเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 ที่เวลาต่าง ๆ

SOV	d.f.	SS	MS	F_{cal}	$F_{0.05}$	$F_{0.01}$
Between treatment	3	36.799	12.266	1.04 ns	4.07	7.59
Residual	8	94.24	11.78			
Total	11	131.04				

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.3.1 ผลการตรวจสอบทางสถิติเพื่อทดสอบความแตกต่างของปริมาณโปรตีนในถั่วเหลืองหมักเชื้อผสมของ R. oligosporus กับ P. shermanii 1250 ที่เวลาต่าง ๆ

SOV	d.f.	SS	MS	F_{cal}	$F_{0.05}$	$F_{0.01}$
Betweem treatment	3	33.107	11.03	2.44 ns	4.07	7.59
Residual	8	36.173	4.52			
Total	11	69.28				

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ภาคผนวก ข.3.2 ผลการตรวจสอบทางสถิติเพื่อทดสอบความแตกต่างของปริมาณโปรตีนในถั่วเหลืองผสมเปลือก 5% หมักเชื้อผสมของ R. oligosporus กับ P. shermanii 1250 ที่เวลาต่าง ๆ

SOV	d.f.	SS	MS	F_{cal}	$F_{0.05}$	$F_{0.01}$
Between treatment	3	109.47	36.49	1.17 ns	4.07	7.59
Residual	8	249.42	31.18			
Total	11	358.89				

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้